

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie
der Haustiere mit Ambulatorium
Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold

(Arbeit unter der Leitung von Dr. R. Müller)

Untersuchungen über den therapeutischen Einsatz von Immunglobulinen zur lokalen Behandlung von Mastitiden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Veterinär-medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
URS SCHORNO
Tierarzt von Giswil OW

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
Prof. Dr. H. U. Bertschinger, Korreferent

Zürich 1981
Zentralstelle der Studentenschaft Zürich

1982
—

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie
der Haustiere mit Ambulatorium
Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold

(Arbeit unter der Leitung von Dr. R. Müller)

Untersuchungen über den therapeutischen Einsatz von Immunglobulinen zur lokalen Behandlung von Mastitiden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Veterinär-medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
URS SCHORNO
Tierarzt von Giswil OW

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
Prof. Dr. H. U. Bertschinger, Korreferent

Zürich 1981
Zentralstelle der Studentenschaft Zürich

Untersuchungen über den thermischen
Einfluss von Immunglobulinen auf Bakterien
Gehärtung von Bakterien



Meinen Eltern

und

Evi

INHALTSVERZEICHNIS

A EINLEITUNG

B LITERATUR

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methodik

- 1.1 Herstellung des Gammaglobulinpräparates
- 1.2 Qualitätsanforderungen an das Gammaglobulinpräparat
- 1.3 Agglutinine im Immuserum gegen *Sc. agalactiae*
- 1.4 Bestimmung der bakteriziden Aktivität
- 1.5 Therapieversuch

2. ERGEBNISSE

- 2.1 Reinheit des Gammaglobulinpräparates
- 2.2 Agglutinine gegen die typenspezifischen Antigene von *Streptococcus agalactiae*
- 2.3 Bakterizide Aktivität
- 2.4 Behandlungsversuch

D DISKUSSION

E ZUSAMMENFASSUNG

F LITERATURVERZEICHNIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507220_0003

A EINLEITUNG

Die Erkrankungen der Milchdrüse gehören auch heute noch zu den grossen Problemen jeder Milchviehhaltung.

In vielen Ländern verursacht dieser Krankheitskomplex die wirtschaftlich bedeutendsten Schäden im Rahmen der tierischen Produktion. Für die Schweiz muss davon ausgegangen werden, dass 20-25 % aller Milchkühe an einem oder an mehreren Vierteln zu zellreiche Milch aufweisen.

Die finanziellen Einbussen, die dadurch entstehen, lassen sich grundsätzlich auf folgende Zusammenhänge zurückführen:

1. Jede Mastitis führt zu einer Abnahme der produzierten Milchmenge im erkrankten Viertel. Dieser Milchrückgang korreliert mit der Zahl der Leukozyten in der Milch und beträgt für ein erkranktes Viertel im Mittel rund 20 % (21).
2. Die Mastitis verändert auch die qualitative Zusammensetzung der produzierten Milch. Diese qualitative Änderung des Ausgangsproduktes führt zu Qualitätseinbussen bei den Milchprodukten. Der genaue Umfang dieser Schäden ist nicht bekannt, nach Schätzungen dürfte er aber beträchtlich sein.

3. Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass Kühe mit Mastitiden im Durchschnitt eine deutlich verkürzte Nutzungsdauer aufweisen, dass sie also rascher ersetzt werden müssen (2). Dadurch müssen die Aufzuchtkosten in kürzerer Zeit amortisiert werden und es geht wertvolles genetisches Material vorzeitig verloren (35).

Diese Tatsachen haben dazu geführt, dass zur Zeit weltweit grosse Anstrengungen unternommen werden, um die Zahl der Mastitisfälle zu reduzieren und in ausgedehnten Versuchen wurde die Effektivität verschiedener Bekämpfungsprogramme untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass nur eine Kombination von prophylaktischen und therapeutischen Massnahmen erfolgversprechend ist (40). Zur Zeit stehen die folgenden im Vordergrund einer systematischen Mastitisbekämpfung:

1. Verbesserungen der Melktechnik und -hygiene
2. Optimierung der Melkanlagen
3. Reduktion der Erregerübertragung durch Zitzen-desinfektion nach dem Melken
4. Chemotherapie zum Zeitpunkt des Trockenstellens und während der Laktation.

Ein solches Massnahmenpaket bringt, zumindest im Problem-betrieb, unzweifelhafte Erfolge. Voraussetzung ist allerdings, dass diese Massnahmen systematisch, konsequent und permanent zur Durchführung gelangen. Gerade ein solches systematisches Vorgehen ist jedoch nicht immer gewährleistet. Deshalb ist die Suche nach anderen Wegen und Möglichkeiten der Prophylaxe und Behandlung von Mastitiden unumgänglich.

In neuester Zeit wird die Einbeziehung der natürlichen Abwehrmechanismen intensiv untersucht. Dabei sind es vor allem zwei Mechanismen, denen grössere Bedeutung zukommen dürfte. Zum einen sind es die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten als Teil der unspezifischen zellulären Abwehr (30). Zum andern wird den Immunglobulinen, die einen spezifischen humoralen Infektionsschutz vermitteln, ebenfalls eine grössere Bedeutung zugemessen (16, 26). Immunglobuline können ihre Wirkung auf zwei Arten erbringen: Einerseits sind sie in der Lage, Bakterien direkt zu lysieren und andererseits können sie indirekt als Opsonine deren Phagozytose erleichtern (33).

In den vorliegenden Untersuchungen sollte im Sinne einer Pilotstudie überprüft werden, ob durch die intrazisternale Applikation von Immunglobulinen bei Kühen mit subklinischen Mastitiden ein therapeutischer Effekt erzielt werden kann, der es erlauben würde, Dauer und Dosis der üblichen Antibiotikabehandlungen zu reduzieren.

B LITERATUR

Der Körper verfügt über eine ganze Anzahl verschiedener Mechanismen, um sich gegen das Eindringen und die Anwesenheit von Mastitiserregern zur Wehr zu setzen (35). Für das Rindereuter im speziellen sind es sowohl die physikalisch-chemischen Gegebenheiten im Bereich des Strichkanals und der Zitze als auch humorale und zelluläre Mechanismen unspezifischer und spezifischer Art in Sekret und Eutergewebe. Während die ersteren ihre Bedeutung bei der Abwehr eindringender Erreger haben, werden die zweiten sowohl im Sinne eines Schutzes vor Infektionen als auch bei der Auseinandersetzung im Verlaufe einer manifesten Mastitis aktiv. Sie sollen im folgenden kurz besprochen werden.

Unspezifische humorale Abwehr

Zellfreie Milch enthält eine ganze Anzahl nicht spezifischer Faktoren, die das Wachstum von Mastitiserregern beeinflussen. Unter diesen Substanzen, früher Laktenine genannt, kommt den Proteinen Laktoferrin, Lysozym und dem Laktoperoxidase-Thiozyanat-Wasserstoffperoxid-System grösste Bedeutung zu.

Lakttoferrin ist ein eisenbindendes Protein, das in der Milch in wechselnden Mengen vorkommt. Normalerweise ist der Gehalt mit 0.1 - 0.3 mg/ml relativ niedrig; die Konzentration steigt jedoch mit zunehmender Laktationsdauer an und erreicht in der Trockenzeit Werte von 20 - 30 mg/ml (41, 42). Seine Wirkung beruht darauf, dass es in Gegenwart von Bikarbonat Eisenionen bindet, die dann den Bakterien nicht mehr zur Verfügung stehen.

In verschiedenen Untersuchungen liess sich ein gleicher Effekt auch auf Mastitiserreger nachweisen (3, 11).

Lysozym ist ein hitzestabiles, basisches Enzym, das in den Ribosomen von Körperzellen gebildet wird und auf die Bakterienwand einwirkt. In der Milch kommt es in relativ geringen Mengen vor, steigt aber in erkrankten Vierteln deutlich an (11). Seine bakterizide Wirkung beruht auf einer Katalyse der enzymatischen Bakteriolyse. Noch unklar ist die Interaktion von Lysozym mit Komplement und Ig A (10, 32).

Unspezifische zelluläre Abwehr

Bereits 1884 beschrieb METCHNIKOFF (20) das Phänomen der Phagozytose, d.h. die Aufnahme und Beseitigung von in den Organismus eingedrungenen Fremdstoffen durch Zellen mesenchymaler Herkunft. Auch innerhalb der Abwehrsysteme des Euters wird den Phagozyten die primäre Funktion zugeschrieben (30, 31).

In der Milch laktierender Kühe sind es vor allem die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN), die diese Funktion wahrnehmen. Es ist auch diese Zellart, die in der Milch den überragenden Prozentsatz ausmacht. Im Sekret subklinisch erkrankter Euterviertel gehören mehr als 90 % aller Zellen zu den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (13). Ihre schützende Rolle im Mastitisgeschehen konnte von JAIN et al. (12) und von SCHALM et al. (38) bewiesen werden. Sie zeigten, dass nach künstlich induzierter Neutropenie die Anfälligkeit gegenüber Neinfektionen sehr stark ansteigt und dass sich subklinische Mastitiden zu schwersten gangränösen Mastitiden entwickeln, wenn der Schutz durch die Leukozyten wegfällt.

Trotz der grossen Zahl von Phagozyten in Euter und Milch ist die Anfälligkeit gegenüber Neuinfektionen recht gross (24). Dies ist nicht zuletzt darauf zurückzuführen, dass die phagozytäre Leistung von Granulozyten in der Milch deutlich geringer ist im Vergleich zu Granulozyten aus dem Blut desselben Tieres (22, 45, 46). Für diese Diskrepanz sind bislang die folgenden Ursachen gefunden worden:

NAIDU und NEWBOULD (22) konnten zeigen, dass PMN aus der Milch 38 % weniger Glykogenreserven aufweisen als PMN aus dem Blut. Durch Zugabe von Glukose zum Testsystem konnte auch die Phagozytoserate in vitro von Milchleukozyten deutlich gesteigert werden (23).

WISNIOWSKI et al. (46) vermuteten, dass eine ungenügende Opsonisierung der Erreger für deren reduzierte Phagozytose verantwortlich zu machen sei. Die Richtigkeit dieser Hypothese wurde bewiesen, indem durch Zugabe von Immunserum zum Testsystem die Phagozytoserate von Leukozyten aus der Milch gesteigert werden konnte (23).

Schliesslich wurde auch festgestellt, dass die Phagozytoseaktivität gestört wird durch normale Inhaltsstoffe der Milch. Lichtmikroskopische Beobachtungen ergaben, dass 68 % aller Leukozyten irrtümlicherweise Fettkügelchen phagozytiert hatten (31, 43). In experimentellen Untersuchungen liess sich der negative Einfluss des Milchfettes auf die Phagozytose von Bakterien eindeutig belegen (29). In etwas geringerem Ausmass wurde das gleiche Phänomen bei Kaseinmicellen anstelle des Fettes beobachtet. Diese Kaseinmicellen scheinen demzufolge ebenfalls mit der Phagozytose von Bakterien zu interferieren (36, 37).

Spezifische humorale Abwehr

Die spezifische humorale Abwehr gegen Infektionserreger wird durch die Immunglobuline oder Antikörper erbracht (34). Sie sind globuläre Eiweisse, deren Synthese durch das Eindringen von Antigenen induziert worden ist.

Die durch ein bestimmtes Antigen hervorgerufenen Antikörper reagieren mit dem betreffenden Antigen in spezifischer Weise. Entsprechend der praktisch unbegrenzten Zahl von Antigenen in der Natur muss eine ähnlich grosse Zahl korrespondierender Antikörper zur Verfügung stehen.

Antikörper gleichen sich in ihrer globalen Struktur sehr stark, unterscheiden sich jedoch in dem Teil des Moleküls, der für die Antigenbindung verantwortlich ist. Die Grundstruktur der Immunglobuline besteht aus vier Polypeptidketten: zwei leichte Ketten und zwei etwa doppelt so lange schwere Ketten. Die schweren Ketten sind unter sich und mit den leichten Ketten durch Disulfidbrücken aus schwefelhaltigen Aminosäuren verbunden.

Beim Rind wurden bis jetzt drei verschiedene Immunglobulin-klassen nachgewiesen: IgG, IgA und IgM. IgG lässt sich zudem noch in die Subklassen IgG₁ und IgG₂ auftrennen.

Der Gehalt an Immunglobulinen in den verschiedenen Körperflüssigkeiten variiert beträchtlich. In der Tabelle 1 sind die entsprechenden Werte für das Blutserum, das Kolostrum und die Milch zusammenfassend dargestellt. Es ist daraus ersichtlich, dass der Gehalt für alle Klassen im Blutserum deutlich höher liegt als in der Milch. Nur gerade im Kolostrum werden Werte erreicht, die mit den Blutserumwerten etwa vergleichbar sind.

Tab. 1: Immunglobulingehalt (mg/ml) in Blut, Kolostrum
und Milch von laktierenden Kühen
(nach NORCROSS (27))

	IgG ₁	IgG ₂	IgA	IgM
Blutserum	13	8	0.5	2.5
Kolostrum	40	3	2 - 4	4.5
Milch	0.3-0.5	0.03	0.1-0.2	0.05

Diese geringen Mengen von Immunglobulinen in der Milch werden denn auch zum Teil für die ungenügende Infektionsabwehr verantwortlich gemacht(16, 27). Gleichzeitig scheint dieser geringe Gehalt auch die Möglichkeit einer Immunprophylaxe zu limitieren oder zumindest zu erschweren.

Die Immunglobuline gelangen auf drei verschiedenen Wegen in die Milch. Der am längsten bekannte Weg ist die systemische Bildung der Antikörper mit anschliessender passiver Filtration durch die Blut-Euter-Schranke. Diese Filtration ist abhängig von einer ganzen Anzahl unterschiedlicher Faktoren, wie Molekülgrösse, Ladung, pH-Verhältnisse und Zustand der Blut-Euter-Schranke. Für IgG₂ wird dieser Weg als der wichtigste angenommen (25).

Im Gegensatz zu dieser passiven Filtration besteht für IgG₁ ein selektiver, aktiver Transportmechanismus (2, 5, 15, 25). An der Zellmembran der Epithelzellen befinden sich spezifische Rezeptoren, die IgG₁ mittels Transportvakuolen durch die Zelle schleusen.

Neben diesen beiden Transportmechanismen hat die Milchdrüse selber auch die Fähigkeit zur lokalen Synthese von Antikörpern. Dies gilt insbesondere für IgA und IgM, aber auch für IgG (6, 14, 17, 19, 25, 47).

Funktion der Immunglobuline

Die Antikörperfunktion beruht auf der spezifischen Bindung eines als fremd erkannten Antigens. Der Schutzeffekt der humoralen Antikörper gegen infektiöse Mikroorganismen beruht auf den folgenden Reaktionen (11):

- Neutralisation von Toxinen oder zellulären Enzymen
- Bakteriolyse in Verbindung mit dem Komplementsystem
- Blockierung der infektiösen Eigenschaften der Mikroorganismen durch Verbindung mit Virulenzantigenen
- Agglutination von Mikroorganismen
- Opsonisierung von Mikroorganismen und dadurch Erleichterung der Phagozytose durch Leukozyten

Diese stichwortartige Zusammenfassung der Wirkungen von Immunglobulinen veranschaulicht die Komplexität der Auseinandersetzung des Organismus mit Infektionserregern. Insbesondere das Ineinandergreifen der verschiedenen Abwehrsysteme erschwert exakte Untersuchungen sehr. Gerade aber dieses Zusammenspiel verschiedener Mechanismen dürfte in vivo als Summe einer Vielzahl von Einzelwirkungen erst den Schutz des Organismus ausmachen. Da zur Zeit noch kein in vitro-System bekannt ist, das erlaubt, diese Abwehrleistung des Gesamtorganismus zu messen, spielt der Feldversuch, so problematisch er oftmals auch sein mag, noch immer eine unersetzliche Rolle.

Therapeutischer Einsatz von Globulinpräparaten

Globulinpräparate werden in der Veterinärmedizin zur passiven Immunisierung sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch seit langem angewendet. Dabei kommen sowohl Vollseren als auch mehr oder weniger gereinigte Globulinfraktionen zur Anwendung. Für die Isolierung der Ig-Fraktion aus dem Serum steht eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden zur Verfügung. Die von FEY et al. (8) beschriebene Methode der Ausfällung und Reinigung mittels Ammoniumsulfat wurde im speziellen deshalb gewählt, weil sie einfach durchzuführen ist, ein reines Präparat liefert und auch für grosse Serummengen noch rationell ist.

Die therapeutische Anwendung von Immunseren ist durch die Einführung der Antibiotika beinahe verdrängt worden. Es liegen deshalb kaum neuere Untersuchungen über deren Einsatz beim Rind vor. Noch spärlicher und zudem widersprüchlich sind die Angaben über die lokale Anwendung von Immunseren zur Mastitisbehandlung (1, 4, 7, 44). Während BOTES (1) den Einsatz ausserordentlich günstig beurteilt, kamen andere Autoren zu etwas differenzierteren Ergebnissen (4, 7, 44). Die Unterschiede in der Beurteilung beziehen sich sowohl auf das verwendete Immunserum als auch auf den Behandlungserfolg. Alle Autoren verwendeten die IgG-Fraktion eines Serumpools, gewonnen von Kühen mit subklinischen Mastitiden. Unterschiedliche Ergebnisse ergaben jedoch bereits die Bestimmungen der spezifischen Antikörpertiter. Während BOTES (1) Agglutinititer bis 1:100 000 fand, betrugen die Werte bei anderen Autoren nie mehr als 1:1000.

Recht gross sind auch die Unterschiede bezüglich des Erfolges einer Behandlung. Während der Prozentsatz geheilter Fälle bei WIENER (44) nicht einmal 50 % betrug, kam BOTES (1) auf 95 %. Uebereinstimmend berichteten alle Untersucher über erstaunliche Erfolge in einzelnen Fällen, die normalerweise prognostisch als ungünstig zu beurteilen waren. Einigkeit besteht auch in der Frage, dass Globuline in Kombination mit Antibiotika eindeutig bessere Ergebnisse bringen als die Globuline und, etwas weniger deutlich, als die Antibiotika allein.

Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae wird auf Grund eines Zellwandantigens, der sogenannten C-Substanz, der Gruppe B zugeteilt. Zusätzlich zu dieser C-Substanz besitzen alle Streptokokken noch mindestens ein weiteres Antigen. Diese zusätzlichen Antigene erlauben eine Unterteilung der Gruppe B in verschiedene Typen. Bis heute sind sieben unterschiedliche typenspezifische Antigene bekannt, fünf davon sind Polysaccharide (Ia, Ib, Ic, II und III), die übrigen beiden sind Proteine (R, X).

Die typenspezifischen Polysaccharide sind Virulenzfaktoren und gegen sie gerichtete Antikörper schützen den Organismus vor einer Infektion oder sind in einem späteren Stadium an der Elimination der Erreger beteiligt (28). Die gruppenspezifische C-Substanz und die typenspezifischen Proteinantigene führen beim Rind zwar auch zur Bildung von Antikörpern, allerdings kommt diesen keine schützende Wirkung zu.

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. MATERIAL UND METHODIK

1.1 Herstellung des Gammaglobulinpräparates

a) Material

Die Herstellung des Gammaglobulinpräparates erfolgte aus dem Blutserum von Schlachttieren des Schlachthofes Zürich. Als Spender kamen nur solche Kühe in den Versuch, die zum Zeitpunkt der Schlachtung an einem oder mehreren Vierteln eine manifeste Mastitis, verursacht durch *Sc. agalactiae*, aufwiesen. Dies wurde vorgängig der Schlachtung durch die mikrobiologische Untersuchung von Einzelmilchproben abgeklärt. *) Der Nachweis von Gelbgalt-Streptokokken erfolgte nach dem von HESS und MEYER (50) beschriebenen Verfahren, unter Verwendung der Toxinplatte nach BECHT (48).

Bei der Schlachtung wurde aus 1000 ml Blut nach der Gerinnung durch Zentrifugation Serum hergestellt. Für die weitere Verarbeitung wurden die Seren von 10 Tieren zusammengegeben und als Serumpool bearbeitet.

b) Methodik

Die Gewinnung der Gammaglobuline aus dem Serumpool erfolgte durch Ausfällung mit Ammoniumsulfat. Dabei war der Ablauf folgender:

- Langsame Zugabe der halben Menge kalt gesättigter Ammoniumsulfatlösung zu einem bestimmten Volumen des Serums.

*) Die bakteriologischen Untersuchungen wurden durch das Institut für Veterinärhygiene der Universität Zürich durchgeführt.

- Nach der Zugabe bei leichtem Umrühren 3 Stunden stehen lassen
- Zentrifugation (2800 g); Ueberstand verwerfen
- Sediment in Aqua dest. aufnehmen

Dieser Ausfällungsvorgang wird dreimal wiederholt. Nach der dritten Durchführung wird das Sediment in 0,3 %-gesättigter Ammoniumsulfat-Lösung aufgenommen. Nach nochmaligem Zentrifugieren und anschliessendem Auflösen des Sedimentes in 0,9 % NaCl-Lösung folgt die Entfernung des Ammoniumsulfates durch Dialyse gegen physiologische Kochsalzlösung bei 4°C während 1-2 Tagen. Diese Dialyse wird solange weitergeführt, bis ein paar Tropfen der Eiweisslösung eine 1 %-BaCl₂-Lösung nicht mehr trüben, d.h. bis kein BaSO₄ mehr ausfällt.

Nach der Bestimmung des Totaleiweissgehaltes wurde das Globulinpräparat auf eine Eiweisskonzentration von 7-8 gr/100 ml mittels 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt, anschliessend an die Sterilfiltration unter keimfreien Kautelen in 10 ml-Portionen abgefüllt und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert.

1.2 Qualitätsanforderungen an das Gammaglobulinpräparat

Vor der Verwendung des Präparates zur Behandlung von Mastitiden mussten zusätzlich folgende Bedingungen erfüllt sein:

a) Sterilität des Präparates

Bei jedem Herstellungsdurchgang wurde von der Eiweisslösung vor der portionenweisen Abfüllung und nach der Portionierung stichprobenweise die Sterilität des Präparates geprüft. Diese Prüfung erfolgte durch Bebrütung von 0,5 ml der Eiweisslösung in 10 ml Trypticase soy broth während 48 Stunden bei 37°C und anschliessender Ueberimpfung auf Blutagarplatten. War bakterielles Wachstum feststellbar, so wurde die ganze Charge verworfen.

b) Trennung der Serumproteine

Die elektrophoretische Trennung der Serumproteine wurde auf den in der klinischen Diagnostik üblichen Cellulose-Azetat-Folien durchgeführt (49), unter Verwendung des Beckman-Spinco Elektrophoresesystems R-110. Durch Integration der Kurven mittels eines Beckman Densitometers (Modell R-112) konnte der relative Anteil der einzelnen Fraktionen errechnet werden. Im Hinblick auf die Untersuchungen von BOTES (1) sollte das Präparat einen Anteil an Gammaglobulinen von mindestens 85 % aufweisen.

c) Verträglichkeit

Nach der intramammären Applikation des Präparates bei eutergesunden Kontrolltieren durften keine grobsinnlichen Veränderungen feststellbar sein und die Zellzahl durfte 24 Stunden nach der Behandlung 1 Mio/ml nicht überschreiten. Waren diese Bedingungen erfüllt, so wurde das Präparat für die weiteren Untersuchungen frei gegeben.

Diese weiteren Untersuchungen umfassten als in-vitro-Versuche die Bestimmung des Antikörpergehaltes und die Messung der bakteriostatischen Aktivität gegen B-Streptokokken und als in-vivo-Abklärungen einen Therapieversuch bei subklinischen Gelbgalt-Mastitiden.

1.3 Agglutinine im Gammaglobulinpräparat gegen *Sc. agalactiae*

Als Mass für den Gehalt an Antikörpern im Gammaglobulinpräparat wurde die Bestimmung der Agglutinine gegen die verschiedenen Typen von *Streptococcus agalactiae* gewählt. Als Antigene kamen die Typen Ia, Ib, Ic, II, III, R und X zur Prüfung. Die Herstellung des Antigens und die genaue Durchführung der Agglutination sind von MATHYS (18) und von SCHEUERMEIER (39) im einzelnen beschrieben worden, so dass hier auf methodische Einzelheiten nicht eingegangen werden soll.

1.4 Bestimmung der bakteriostatischen Aktivität

a) GG-Suspension

Als Testkeim wurde *Sc. agalactiae* Typ II verwendet. Vor Zugabe zur Milchprobe wurde eine Kolonie in 10 ml Trypticase Soy Broth gegeben und über Nacht (18 Stunden) bei 37° C bebrütet.

b) Durchführung des Testes

100 ml frische, antibiotika- und keimfreie Milch aus einem gesunden Euterviertel wurden im Wasserbad auf 37° C erwärmt. Anschliessend erfolgte die Zugabe von 1 ml der oben angegebenen GG-Keimsuspension. Damit wurde eine Keimzahl von etwa 10⁶/ml erzielt. Unmittelbar im Anschluss an die Inokulation wurde aus dieser Milch eine erste Gesamtkeimzahlbestimmung (doppelter unabhängiger Ansatz) vorgenommen. Nach einer Inkubation dieser Milchproben bei 37° C während 8 Stunden wurde eine zweite und nach 24 Stunden eine dritte Keimzahlbestimmung durchgeführt. Die Präparation der Keimzählung geschah nach dem KOCH'schen Plattenverfahren mit Tryptan-Hefeextrakt-Glukose-Agar. Nach einer Bebrütung von 24 Stunden erfolgte die Zählung der gebildeten Kolonien.

Zur Beurteilung der bakteriostatischen Aktivität wurde das Verhältnis des zweiten bzw. dritten zum ersten Keimzahlergebnis herangezogen und als Quotient dargestellt.

$$\text{Bakteriostase-Quotient (BQ)} = \frac{\text{Gesamtkeimzahl nach Inkubation}}{\text{Gesamtkeimzahl nach Inokulation}}$$

Daraus ist ersichtlich, dass der Bakteriostase-Quotient umso niedriger ist, je stärker die Keimvermehrung im Testsystem gehemmt wird.

Bei jeder Durchführung des Testes wurden drei unterschiedliche Proben angesetzt:

Probe 1: 100 ml Milch

Probe 2: 100 ml Milch + 10 ml Gammaglobulinpräparat

Probe 3: 100 ml Milch + 1 ml Gammaglobulinpräparat

Durch diesen dreifachen Ansatz ist es möglich, eine Aussage zu machen über den Einfluss des Gammaglobulinpräparates auf das Wachstum der Bakterien.

1.5 Therapieversuch

Für die Abklärung der in vivo-Wirksamkeit des Gammaglobulinpräparates standen 43 Kühe aus dem Einzugsgebiet der ambulatorischen Klinik des Tierspitals Zürich zur Verfügung. Sämtliche Tiere litten an einem Viertel an einer subklinischen Mastitis, verursacht durch *Streptococcus agalactiae*. Diese Diagnose stützte sich auf das Resultat einer einmaligen zytologischen und bakteriologischen Untersuchung des Milchsekretes.

Die Behandlung der Tiere erfolgte nach folgendem Schema:

1. Injektion von 10-20 I.E. Oxytocin und anschliessendes vollständiges Ausmelken des erkrankten Viertels.
2. Instillation von 10 ml des Gammaglobulinpräparates (GP) + 300'000 I.E. Procain-Penicillin G, suspendiert in 40 ml Solutio Parabeni* (VETERINARIA AG, Zürich).

Eine Nachbehandlung wurde nicht durchgeführt. Nach 1 und nach weiteren 3 Wochen erfolgte eine Kontrolluntersuchung. Dabei folgte anschliessend an die palpatorische Untersuchung des Viertels eine grobsinnliche Beurteilung des Milchsekretes. Zur Objektivierung des Behandlungserfolges wurde zudem indirekt die Zellzahl mit dem California-Mastitis-Test (CMT) bestimmt und eine Sekretprobe im Labor mikrobiologisch untersucht.

*) Alkylester der Paraminobenzoessäure, 0,2 % ig

Auf Grund dieser Kontrolluntersuchungen wurden die Tiere in eine der drei folgenden Gruppen eingeteilt:

Vollständig geheilt: CMT negativ
Sc. agalactiae nicht isolierbar

Bakteriologisch ge- CMT positiv
heilt : Sc. agalactiae nicht isolierbar

Nicht geheilt : CMT positiv
Sc. agalactiae nachweisbar

Als Vergleichsbasis zur Beurteilung des Therapieerfolges dienten die Ergebnisse alleiniger antibiotischer Behandlungen von Gelbgalt-Mastitiden bei Kühen aus dem Einzugsgebiet der Ambulatorischen Klinik des Tierspitals. Bei gesicherter bakteriologischer Diagnose wird dabei folgendermaßen verfahren:

Erstbehandlung: Intrazisternale Instillation von 2 Mio I.E. Procain-Penicillin G, suspendiert in 40 ml Solutio Parabeni.

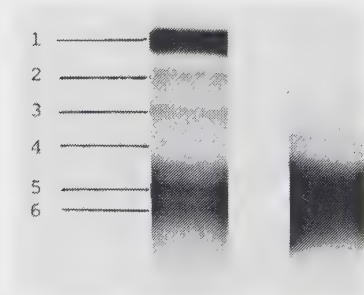
Nachbehandlungen: 2 mal in Abständen von 24 Stunden je 1 Mio I.E. Procain-Penicillin G in mikronisierter Form als Suspension in 10 g einer wasserdispergierbaren öligen Salbengrundlage (sog. Injektoren).

2. ERGEBNISSE

2.1 Reinheit des Gammaglobulinpräparates

In Abb. 1 ist das Ergebnis der Elektrophorese auf Cellulose-Acetat-Folien abgebildet. Es ist daraus zu sehen, dass beim Globulinpräparat nur noch eine Bande feststellbar ist, während das normale Serum eine ganze Reihe unterschiedlicher Banden aufweist.

Abb. 1: Cellulose-Acetat-Folienelektrophorese von normalem Rinder Serum und von einem Gammaglobulinpräparat.



- 1 Albumin
- 2 α 1 - Globulin
- 3 α 2 - Globulin
- 4 β - Globulin
- 5 } γ Globuline
- 6 }

Das Ergebnis der quantitativen Bestimmung der Anteile der einzelnen Fraktionen ist in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Bestimmung der Eiweissfraktionen vor und nach Herstellung des Globulinpräparates.

	Serumpool	Globulinpräparat
Albumin	50.5 %	1.4 %
α -Globulin	13.2 %	2.1 %
β -Globulin	13.6 %	4.2 %
γ -Globulin	22.7 %	92.3 %

Es ist daraus ersichtlich, dass mit unserem Herstellungsverfahren die geforderte Reinheit von 85 % γ -Globulinen gut erreicht werden kann.

2.2 Agglutinine gegen die typenspezifischen Antigene von
Streptococcus agalactiae

In der Tabelle 3 sind die Agglutinationstiter des Gammaglobulinpräparates gegen die heute bekannten Typen von Sc. agalactiae dargestellt.

Tab. 3: Agglutinationstiter gegen Sc. agalactiae

Typ	Verdünnung						
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
Ia	-	-	-	-	-	-	-
Ib	-	-	-	-	-	-	-
Ic	-	-	-	-	-	-	-
II	++	++	++	++	++	-	-
III	-	-	-	-	-	-	-
R	++	++	++	++	++	-	-
X	++	++	++	++	++	+	-

Es ist daraus ersichtlich, dass eine Agglutination nur gegen die Typen II, R und X feststellbar war, während die übrigen Kohlehydrattypen auch in der Ausgangsverdünnung nicht agglutiniert worden sind.

2.3 Bakteriostatische Aktivität

Die Ergebnisse der Bestimmungen der Gesamtkeimzahl sind in der Tabelle 4 zusammenfassend dargestellt.

Tab. 4: Wachstum von *Sc. agalactiae* Typ II in Milch bzw. Milch + Gammaglobulinpräparat (GP)

Medium	Gesamtkeimzahl/ml Medium		
	nach Inokulation	nach Inkubation	
		8 Stunden	24 Stunden
100 ml Milch	$2,1 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^7$	$2,7 \cdot 10^8$
100 ml Milch + 1 ml GP	$1,2 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$	$3,2 \cdot 10^6$
100 ml Milch + 10 ml GP	$7,2 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^6$

In der Tabelle 5 sind die Bakteriostase-Quotienten für die beiden Inkubationszeiten von 8 bzw. 24 Stunden dargestellt.

Tab. 5: Bakteriostase-Quotient in Abhängigkeit von Medium und Inkubationszeit

Medium	Bakteriostase-Quotient	
	nach 8 Std. Inkubation	nach 24 Std. Inkubation
100 ml Milch	21.4	128.6
100 ml Milch + 1 ml GP	2.2	2.7
100 ml Milch + 10 ml GP	3.2	4.2

Aus der Tabelle 5 ist ersichtlich, dass der Bakteriostase-Quotient in Milch ohne GP-Zusatz nach 8 Stunden um einen Faktor 7 - 10 mal höher lag als in den beiden Proben mit GP-Zusatz. Die Werte von 2.2 bzw. 3.2 in den letztgenannten Proben lassen den Schluss zu, dass durch die Erhöhung des GP-Anteils von 1 auf 10 ml keine Verbesserung des Quotienten mehr erreicht werden konnte.

2.4 Behandlungsversuch

In der Tabelle 6 sind die Ergebnisse des Behandlungsversuches an den 43 Mastitisfällen zusammengefasst dargestellt.

Tab. 6: Behandlungsergebnisse nach intrazisternaler Applikation von Gammaglobulinen

	Anzahl Fälle	%
vollständig geheilt	23	54
nur bakteriolog. geheilt	10	23
nicht geheilt	10	23

Aus der Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass in 54 % aller Fälle durch diese Behandlung die Mastitis einer vollständigen Heilung zugeführt werden konnte und dass bei einem weiteren Viertel der Erreger nicht mehr isolierbar war. 10 der 43 Fälle blieben durch die Behandlung unbeeinflusst.

D DISKUSSION

Die mehrmalige Präzipitation der Immunglobuline mit Ammoniumsulfat, wie von FEY (8) beschrieben, hat sich in den vorliegenden Untersuchungen gut bewährt. Es war damit möglich, auch grosse Serummengen in einem Durchgang zu verarbeiten. Die elektrophoretische Auftrennung des Endproduktes zeigt auch, dass damit ein fast reines Gammaglobulinpräparat erhalten werden kann. Die von uns gestellte Anforderung an den Gammaglobulin-gehalt von mehr als 85 % war denn auch in allen Fällen problemlos zu erreichen.

Die In-vitro-Untersuchungen des Gammaglobulinpräparates ergaben teilweise überraschende Resultate. So war zum Beispiel das Fehlen von Antikörpern gegen die typenspezifischen Antigene Ia, Ib, Ic und III in einem Serumpool, der von Gelbgalt-infizierten Kühen gewonnen wurde, unerwartet. Es scheint also, dass als Erreger von Euterentzündungen vor allem der Typ II eine wichtige Rolle spielt. Es ist allerdings auch möglich, dass die anderen Typen vorwiegend zur Bildung von Antikörpern im Milchserum führen und dass deswegen im Blutserum keine Agglutinine nachgewiesen werden konnten.

Die positiven Titer gegen die Antigentypen R und X sind schwierig zu interpretieren. Antikörper gegen diese Typen wurden auch bei Kühen nachgewiesen, die nie Gelegenheit hatten, sich mit Gelbgalt-Streptokokken zu infizieren (39). Zudem wird angenommen, dass die Proteinantigene X und R keine Virulenzfaktoren darstellen (51).

Die positiven Agglutinationstiter gegen das typenspezifische Polysaccharidantigen II in Verdünnungen bis 1 : 160 dürften dagegen auf der Anwesenheit spezifisch induzierter Antikörper beruhen. Dies ist deshalb anzunehmen, weil solche Agglutinine fast ausschliesslich bei Kühen mit Gelbgalt-Infektionen nachgewiesen wurden (39).

Die Bestimmung der bakterio-statischen Aktivität mit dem von uns verwendeten System ergab ein eindeutig positives Resultat. Nach Zufügen von 1 oder 10 ml des GP zu 100 ml einer Suspension von Gelbgalt-Streptokokken in keimfreier Milch und einer Inkubation dieses Gemisches während 24 Stunden betrug die Zahl der Kolonien lediglich das 2,7- bis 4,2-fache der Gesamtkeimzahl der Ausgangssuspension. Bei Milchproben ohne GP-Zusatz dagegen betrug die Zahl der Kolonien nach 24 Stunden das 128-fache.

Es muss allerdings die Möglichkeit eingeräumt werden, dass es sich bei diesem Phänomen nur um einen scheinbaren bakterio-statischen Effekt des GP gehandelt hat. Theoretisch ist nämlich auch vorstellbar, dass der GP-Zusatz zu einer Agglutination der Streptokokken im Testsystem führte und dass deswegen nach einer 24-stündigen Inkubation nur eine geringe Zunahme der Kolonien beobachtet werden konnte.

Der Behandlungsversuch bei den an subklinischen Gelbgalt-Mastitiden erkrankten Tieren hat gezeigt, dass durch die einmalige intrazisternale Instillation von 10 ml des Gamma-globulinpräparates, zusammen mit 300'000 I.E. Procain-Penicillin G in 77 % aller Fälle der Erreger eliminiert werden konnte.

Vergleicht man dieses Resultat mit den Ergebnissen von FRÜH (9), der bei chronischen Gelbgalt-Mastitiden nach alleiniger, wiederholter Verabreichung von Procaïn-Penicillin G in Dosierungen von 1 - 2 Mio I.E. eine Eliminationsrate von 66 % beobachtete, so scheint es gerechtfertigt, die Wirksamkeit der lokalen Behandlung von subklinischen Mastitiden mit Gammaglobulinen an einem umfangreicheren Material zu überprüfen. Selbst wenn es sich zeigen sollte, dass die Therapie-Erfolge nicht signifikant besser sind, so würde allein schon die nur einmalige Behandlung einen wesentlichen Vorteil bedeuten.

Es wäre natürlich wünschbar gewesen, in den vorliegenden Untersuchungen ganz auf das Penicillin zu verzichten. Da es sich bei den Tieren jedoch um Patienten handelte, und da die In-Vivo-Wirksamkeit des Gammaglobulinpräparates nicht bekannt war, wäre ein solches Vorgehen nicht zu verantworten gewesen.

Da darauf verzichtet wurde, die aus den erkrankten Vierteln isolierten Streptokokken zu typisieren, ist auch unklar, worauf die nicht geheilten Fälle zurückgeführt werden müssen. Grundsätzlich bestehen zwei Möglichkeiten. Zum einen kann es sein, dass es sich um Infektionen mit einem Typ gehandelt hat, gegen den in unserem GP keine Antikörper vorhanden waren. In diesem Fall kann natürlich auch keine spezifische Wirkung erwartet werden. Zum anderen ist es aber auch vorstellbar, dass für die Immunglobuline dieselben pharmakokinetischen Probleme bestehen, wie sie für die Antibiotika im Zusammenhang mit der Mastitisbehandlung bekannt sind. Es kann also durchaus sein, dass die Immunglobuline bei den therapieresistenten Fällen den Ort der Infektion nicht erreichten und demzufolge auch keine spezifische Wirkung entfalten konnten. Vor einer endgültigen Beurteilung der intramammären Globulintherapie sind diese Fragen noch genauer abzuklären. Die hier beschriebenen

Ergebnisse lassen es jedoch als angebracht erscheinen, Möglichkeiten und Grenzen dieser unkonventionellen Art der Mastitisbehandlung weiter zu untersuchen.

E ZUSAMMENFASSUNG

Mit der mehrmaligen Ammoniumsulfat-Präzipitation nach FEY wurde ein Gammaglobulinpräparat zur Behandlung chronischer subklinischer Gelbgalt-Mastitiden hergestellt. Dieses Präparat wies spezifische Titer gegen die *Sc. agalactiae*-Typen II, R und X auf. Die In-vitro-Bestimmung der bakteriostatischen Aktivität zeigte, dass das Serum eine Keimvermehrung weitgehend verhinderte. Bei einem anschliessenden Therapieversuch führte eine einmalige Behandlung mit dem Gammaglobulinpräparat und 300'000 I.E. Penicillin in 77 % der Fälle zur Eliminierung der Erreger.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BECHT, H. (1961):
Vorschlag zur Mastitis-Diagnostik
Schweiz. Arch. Tierheilk. 103; 627-630
2. BOTES, H.J.W. (1970):
Local immunotherapy of mastitis
J. South. Afr. Vet. Med. Ass., Suppl. 1; 1-43
3. BRANDON, M.R., WATSON, D.L. and LASCELLES, A.K. (1971):
The mechanism of transfer of immunoglobulin into
mammary secretion of cows
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 49; 613-623
4. BULLEN, J.J. and ARMSTRONG, J.A. (1979):
The role of lactoferrin in the bactericidal function
of polymorphnuclear leucocytes
Immunology 36; 781-791
5. BUSCHMANN, H., SAALFELD, K. und WIENER, R. (1977):
Untersuchungen zur Frage der lokalen Gammaglobulin-
therapie von Mastitiden beim Rind
Tierärztl. Umschau 32; 175-180
6. BUTLER, J.E., WINTER, A.J. and WAGNER, G.G. (1970):
Symposium: Bovine immune system
J. Dairy Sci. 54; 1309-1314

7. BUTLER, J.E., KIDDY, C.A., MAXWELL, C., HYLTON, M.B.
and ASOFSKY, R. (1971):
Synthesis of immunoglobulins by various tissues of
the cow
J. Dairy Sci. 54; 1323-1324
8. CAWLEY, L.P. (1969):
Electrophoresis and immunoelectrophoresis
Little, Brown
9. DEN HEEVER, L.W. (1976):
Subclinical septic bovine mastitis: Critical
evaluation of intramammary immunoglobulin therapy
J. South Afr. Vet. Med. Ass. 47; 257-261
10. FEY, H., NICOLET, J., VON FELLEBERG, R. und
MARGADANT, A. (1964):
Immunologische, serologische und immunochemische
Methoden zum Nachweis der Agammaglobulinämie des
Kalbes
Zbl. Vet. Med., Reihe B, 11; 584-602
11. FRUEH, H.P. (1976):
Erhebungen über Auftreten und Verlauf der Mastitis
beim Rind
Vet. Diss. Zürich
12. HEDDLE, R.J., KNOP, J., STEELE, E.J. and ROWLEY, D.
(1975):
The effect of Lysozyme on the complement-dependant
bactericidal action of different antibody classes
Immunology 28; 1061-1066

13. HESS, E. und MEYER, B. (1978):
Ergebnisse einer neuzeitlichen Mastitisdiagnostik
Schweiz. Arch. Tierheilk. 120; 163-170
14. JAIN, N.C., SCHALM, O.W., CARROLL, E.J. and
LASMANIS, J. (1968):
Experimental mastitis in leucopenic cows
Am. J. Vet. Res. 29; 2089-2097
15. JAIN, N.C., SCHALM, O.W., and LASMANIS, J. (1971):
Experimentally induced coliform mastitis in normal
cows and in cows made neutropenic by an equine
anti-bovine leukocyte serum
Am. J. Vet. Res. 32; 1929-1935
16. KORHONEN, H. (1973):
Untersuchungen zur Bakterizidie der Milch und
Immunisierung der bovinen Milchdrüse
Vet. Diss., Helsinki
17. LASCELLES, A.K., OUTERIDGE, P.M. and MACKENZIE, D.D.S.
(1966):
Local production of antibody by the lactating mammary
gland following antigenic stimulation
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 44; 169-180
18. LASCELLES, A.K., MACKENZIE, D.D.S. and OUTERIDGE, P.M.
(1971):
Immunity to mastitis
J. Dairy Sci. 54; 284-285

19. LASCELLES, A.K. (1979):
The immune system of the ruminant mammary gland and
its role in the control of mastitis
J. Dairy Sci. 62; 154-160
20. MACH, J.-P. and PAHUD, J.-J. (1971):
Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine
external secretions
J. Immunol. 106; 552-563
21. MATHYS, A. (1980):
Agglutinierende Antikörper in Blut- und Milchserum
des Rindes nach Vakzination mit Streptococcus
agalactiae
Vet. Diss. Zürich
22. Mc DOWELL, G.H. and LASCELLES, A.K. (1971):
Local production of antibody by the lactating
mammary gland of the ewe and the effect of systemic
immunization
Res. Vet. Sci. 12; 113-118
23. METCHNIKOFF, E. (1884):
Zit. nach KORHONEN, H. (13)
24. MEYER, B. (1978):
Produktionsverluste durch subklinische mit Hilfe des
Impulscytophotometers erfasste Mastitiden
Vet. Diss. Zürich

25. NAIDU, T.G. and NEWBOULD, F.H.S. (1973):
Glycogen in leukocytes from bovine blood and milk
Can. J. Comp. Med. 37; 47-55

26. NEWBOULD, F.H.S. (1970):
Enhancement of phagocytosis in bovine milk leukocytes
in vitro
Can. J. Comp. Med. 34; 261-264

27. NEWBOULD, F.H.S. (1973):
Microbial diseases of the mammary gland, in Lactation,
a comprehensive treatise, Vol. 2
Academic Press, Inc., New York
28. NEWBY, T.J. and BOURNE, J. (1977):
The nature of the local immune system of the bovine
mammary gland
J. Immunol. 118; 461-465

29. NORCROSS, N.L. and STARK, D.M. (1970):
Immunity to mastitis
J. Dairy Sci. 53; 387-392

30. NORCROSS, N.L. (1977):
Immune response of the mammary gland and role of
immunization in mastitis control
J. Am. Vet. Med. Ass. 170; 1228-1231

31. PAAPE, M.J. and GUIDRY, A.J. (1977):
Effect of fat and casein on intracellular killing
of Staphylococcus aureus by milk leukocytes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 155; 588-593

32. PAAPE, M.J. and WERGIN, W.P. (1977):
The leukocyte as a defense mechanism
J. Am. Vet. Med. Ass. 170; 1214-1223
33. PAAPE, M.J., WERGIN, W.P., GUIDRY, A.J. and
PEARSON, R.E. (1979):
Leukocytes-second line of defense against invading
mastitis pathogens
J. Dairy Sci. 62; 135-153
34. REITER, B. (1978):
Review of nonspecific antimicrobial factors in
colostrum
Ann. Rech. Vet. a; 205-224
35. RIESEN, W. und BARANDUN, S. (1979):
Struktur und Funktion von Antikörpern
Sandorama 1979/1, 8-11
36. ROITT, J. (1977):
Leitfaden der Immunologie
Steinkopf-Verlag, Darmstadt
37. RUDOLPH, K., MEYER, F. und SENFT, B. (1977):
Das natürliche Abwehrsystem des Euters
Der praktische Tierarzt 58; 489-490
38. RUSSEL, M.W., REITER, B. (1975):
Phagocytic deficiency of bovine milk leucocytes
An effect of casein
J. Reticuloendothelial Soc. 18; 1-13

39. RUSSEL, M.W., BROOKER, B.E. and REITER, R. (1977):
Electron microscopic observations of the interaction
of casein micelles and milk fat globules with bovine
polymorphnuclear leucocytes during the phagocytosis
of staphylococci in milk
J. Comp. Pathol. 87; 43-52
40. SCHALM, O.W., LASMANIS, J. and JAIN, N.C. (1976):
Conversion of chronic staphylococcal mastitis to
acute gangrenous mastitis after neutropenia in blood
and bone marrow produced by an equine antibovine
leukocyte serum
Am. J. Vet. Res. 37; 885-892
41. SCHEUERMEIER, S. (1980):
Typenspezifische Agglutinine gegen Streptococcus
agalactiae in Blut- und Milchserum von laktierenden
Kühen
Vet. Diss. Zürich
42. SCHULTZ, L.H. (1978):
Current concepts of bovine mastitis
The National Mastitis Council, Inc.; Washington
43. SENFT, B., KLOBASA, F., MEYER, F. und PFLEIDERER, U.E.
(1976):
Untersuchungen über Lactoferrin und Immunglobulin G
in der Kuhmilch
Züchtungskunde 48; 278-288

44. SENFT, B., MEYER, F. und ERHARDT, G. (1980):
Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Lactoferrin
Lysozym, B-Laktoglobulintypen und Sekretionsstörungen
des Euters
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93; 27-29
45. WERGIN, W.P. and PAAPE, M.J. (1978):
The mammary gland of the bovine as a source of
polymorphnuclear neutrophils (PMN)
Fed. Proc. 37; 937
46. WIENER, R. (1977):
Untersuchungen zur Frage der lokalen Gammaglobulin-
therapie von Mastitiden beim Rind
Vet. Diss. München
47. WILKINSON, H.W. and EAGON, R.G. (1971):
Type-specific antigens of group B type 1c Streptococci
Infect. Immun. 4; 596-604
48. WISNIEWSKI, J., RONANIUKOWA, K. and GRAJEWSKI, H.
(1965):
Phagocytosis phenomena in the mammary glands of cows
Bull. Vet. Inst. Pulaway 9; 140-144
49. WISNIEWSKI, J., DROZDYNSKA, M. und KLOSSOWSKA, A. (1978):
Opsonische Aktivität von Blutserum und Milch
gegenüber Staphylococcus aureus und Streptococcus
agalactiae
Milchwissenschaft 33; 740-744

50. YOKOMIZO, Y. and NORCROSS, N.L. (1978):
Bovine antibody against *Streptococcus agalactiae*,
type Ia, produced by preparturient intramammary and
systemic vaccination
Am. J. Vet. Res. 39; 511-516
51. YURCHAK, A.M., BUTLER, J.E. and TOMASI, T.B. (1971):
Fluorescent localization of immunoglobulins in the
tissues of the cow
J. Dairy Sci. 54; 1324-1325

Herrn Prof. Dr. M. Berchtold danke ich für die Ueberlassung des Themas und seine grosszügige Unterstützung.

Besonders danke ich Herrn Dr. R. Müller, Oberassistent an der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie, der die Laborversuche leitete und mir stets hilfsbereit zur Seite stand.

Herzlichen Dank an Frl. M. Thaller, Laborantin im Institut für Geburtshilfe und Gynäkologie, für Ihren grossen Einsatz während den Laborarbeiten.

CURRICULUM VITAE

Am 13.2.50 in Luzern geboren, besuchte ich in Giswil die Primarschule. Das Gymnasium absolvierte ich in Sarnen und bestand dort 1970 die Maturitätsprüfung. Anschliessend verlegte ich meinen Studienplatz an die Universität Zürich und schloss das Studium mit dem Staatsexamen 1976 ab. Zwei Jahre war ich als Assistent an der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie des Tierspitals Zürich tätig und übernahm dann 1978 die Praxis meines verstorbenen Vaters in Giswil.

